

логічна фізіологія / Г. Ф. Степанов. — Одеса, 2005. — 19 с.

6. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований / М. И. Прохорова. — Л. : Изд. ЛГУ, 1982. — С. 166–168.

7. Юрков Ю. А. Определение общей активности НАД-зависимой малатдегидрогеназы / Ю. А. Юрков, Л. Д. Волкова // Лабораторное дело.

— 1973. — № 11. — С. 646–647.

8. Цончева А. В. О некоторых свойствах изоферментов НАДФ-малатдегидрогеназы коркового слоя почек крысы / А. В. Цончева // Биохимия. — 1974. — Т. 39, вып. 6. — С. 1172–1178.

9. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических ис-

следованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — К. : МОРИОН, 2000. — 320 с.

10. Мардашко А. А. Метаболические особенности мышечной ткани сердца и бедра крыс / А. А. Мардашко, Р. Ф. Макулькин, Г. С. Попик // Физиологический журнал. — 1989. — Т. 35, № 3. — С. 21–26.

УДК 612.419+612.83:611-08

Л. Р. Шаймарданова

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПОД ДЕЙСТВИЕМ КСЕНОГЕННОЙ СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С. И. Георгиевского», Симферополь

В настоящее время многие мировые исследовательские лаборатории сконцентрировали усилия на поиске новых биопептидных регуляторов полифункционального действия. В качестве одного из таких субстратов рассматривается спинномозговая жидкость (СМЖ), которая является ценной биологической средой нервной системы и обладает уникальными иммунобиологическими свойствами [1]. Первоначально изучались состав и биологические свойства аллогенной СМЖ, инфузии которой доказывали ее высокую эффективность при коррекции различных патологических состояний; в дальнейшем стали применять и ксеногенную СМЖ (КСМЖ) [2]. В экспериментах было доказано отсутствие тератогенных, эмбриотоксических свойств КСМЖ, а также иммунопатологических реакций после введения КСМЖ [3–5].

Доклинические исследования по изучению свойств КСМЖ, которая рассматривается как возможное сырье для производства нового иммунобиологического препарата, прово-

дятся *in vivo* в Крымском государственном медицинском университете им. С. И. Георгиевского на базе кафедры нормальной анатомии человека [6]. Одним из показательных исследований является изучение морфофункциональных изменений костного мозга (как центрального органа гемопоэза и иммуногенеза) под действием КСМЖ, что и является целью данной работы.

Материалы и методы исследования

Ксеногенную спинномозговую жидкость получали по методу [7], проводили через бактериальные фильтры «Миллипор» и запаивали в ампулы. Для эксперимента были отобраны белые крысы линии Вистар обоих полов 4 возрастных категорий: новорожденные, инфантильные, молодого репродуктивного и предстарческого возраста, обозначенные римскими цифрами I, II, III, IV соответственно. Ксеногенную СМЖ вводили однократно, трехкратно и десятикратно с интервалом в два дня. Материал для исследования —

костный мозг забирали на 7-е и 30-е сутки. Изменения показателей экспериментальных животных сравнивали с показателями контрольных животных того же пола, возраста, массы. Изменения клеток костного мозга отмечали по отпечаткам и мазкам костного мозга бедренных костей крыс. Для изучения морфологии клеток проводили окрашивание по Романовскому — Гимзе, для цитохимического исследования — реакцию PAS (Periodic Acid Schiff reaction) по McManus и Hotchkiss, а также реакцию МПО (на миелопероксидазу) по Loele. Результаты выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК), используя полуколичественный метод по Astaldi, Verga.

Результаты исследования и их обсуждение

В эксперименте в результате воздействия КСМЖ у животных I группы как на 7-е, так и на 30-е сутки в картине мазка костного мозга не было отмечено патологических проявлений — изменения формы клеток и их ядер, необычных



включений в цитоплазме. Костный мозг включал представителей всех клеточных линий разных классов дифференцировки, распределенных по степени зрелости. При окраске PAS-реакцией отмечали диффузное окрашивание цитоплазмы миелобластов и промиелоцитов. Нейтрофильные миелоциты и метамиелоциты содержали умеренное количество гликозаминогликанов, но меньше, чем полиморфноядерные клетки. В эозинофильных метамиелоцитах и миелоцитах PAS-положительный материал сплошь заполнял цитоплазму, оставляя неокрашенными крупные специфические эозинофильные гранулы. Такая же картина наблюдалась в зрелых эозинофилах. Полиморфноядерные нейтрофильные лейкоциты содержали очень много PAS-положительного материала в виде довольно мелких гранул, густо заполнявших цитоплазму. Гранулы располагались и над поверхностью ядра. Специфические гранулы базофилов выявлялись PAS-отрицательными, однако в части базофилов реакция была слабоположительной за счет гликозаминогликанов и фосфолипидов.

В цитоплазме лимфоцитов часто определялись PAS-положительные гранулы, разбросанные по клетке. Часть лимфоцитов содержала PAS-положительный материал в виде венчика из гранул вокруг ядра, в других лимфоцитах он содержался в виде крупных блоков. Моноциты содержали небольшое количество мелких рассеянных гранул гликогена.

В цитоплазме мегакариоцитов на диффузно окрашенном фоне были различимы интенсивно положительные гранулы. Периферия цитоплазмы чаще была неокрашенной, имела кайму из гранул в местах отшнуровки PAS-положительных тромбоцитов. В I группе живот-

ных на 7-е сутки средний цитохимический коэффициент (СЦК) PAS-реакции клеток костного мозга составлял $1,30 \pm 0,01$ в контрольной группе и $1,38 \pm 0,03$ ($P < 0,05$) в экспериментальной ($P < 0,05$). Подобное увеличение СЦК отмечено и на 30-е сутки в той же группе — с $1,27 \pm 0,01$ в контрольной группе до $1,61 \pm 0,03$ ($P < 0,05$) в экспериментальной группе. В данной группе животных активность миелопероксидазы выявлялась в клетках гранулоцитарного ряда, нейтрофилах и эозинофилах, начиная с миелобластов до сегментоядерных клеток в виде рассеянных в цитоплазме гранул. В базофильных промиелоцитах и миелоцитах выявлялась высокая активность миелопероксидазы, а в зрелых базофилах реакция была отрицательной. В моноцитах определялись рассеянные слабоположительные гранулы. Реакция МПО была абсолютно отрицательной в эритроидных клетках, мегакариоцитах и лимфоцитах. Средний цитохимический коэффициент реакции МПО в I группе опытных животных на 7-е сутки составил $1,43 \pm 0,03$ ($P < 0,05$), что отставало от соответствующего значения в контрольной группе ($1,58 \pm 0,01$). На 30-е сутки СЦК МПО в данной группе составил $1,41 \pm 0,06$ ($P < 0,05$), что отражало снижение активности МПО в сравнении с контрольной группой, где СЦК был равен $1,73 \pm 0,08$.

У животных II группы после трех- и десятикратного введения КСМЖ на 7-е и 30-е сутки наблюдения морфология клеток не отличалась от группы контроля. Костный мозг опытных животных включал клетки всех гемопоэтических линий без признаков атипизма. При окраске реакцией PAS гликозаминогликаны определялись во всех морфологически идентифицируемых клетках гранулоцитарного ряда. Концентрация

PAS-положительного материала в клетках гранулоцитопоза нарастала по мере созревания клеток. Диффузное окрашивание цитоплазмы встречалось в наиболее молодых клетках гранулоцитарного ряда (миелобласты, промиелоциты, миелоциты). В зрелых нейтрофилах содержалось много PAS-положительного вещества в виде мелких плотно упакованных гранул, за которыми трудно различим цитоплазматический фон. В зрелых эозинофилах и базофилах специфические гранулы оставались неокрашенными и резко выделялись на фоне диффузного окрашивания цитоплазмы. В моноцитах PAS-положительный материал чаще выявлялся в виде мелкой пылевидной зернистости. В лимфоцитах отмечали меньшую концентрацию гликозаминогликанов, чем в гранулоцитах. У животных II группы трехкратное введение КСМЖ вызвало достоверное увеличение СЦК по PAS-реакции с $1,26 \pm 0,01$ в контрольной группе до $1,49 \pm 0,02$ ($P < 0,05$) в экспериментальной. Также достоверно увеличилось накопление гликозаминогликанов после десятикратного введения КСМЖ животным той же группы, где СЦК возрос с $1,22 \pm 0,02$ до $1,50 \pm 0,03$ ($P < 0,05$) в контрольной и опытных группах соответственно.

Выявляли МПО в специфических азурофильных гранулах в цитоплазме гранулоцитов, начиная с миелобласта. В сегментоядерных нейтрофилах отмечали высокую активность МПО в виде гранул, заполняющих цитоплазму. Высокая активность фермента проявлялась в зрелых эозинофилах. В базофильных промиелоцитах и миелоцитах активность МПО была сравнительно высокой. В зрелых базофилах МПО-материал не встречался. Слабоположительную



Выводы

реакцию на МПО наблюдали в некоторых моноцитах в виде немногочисленных рассеянных гранул. В эритрокариоцитах, лимфоцитах и мегакариоцитах МПО не определялась. Реакция МПО во II опытной группе показала нарастание активности фермента по мере созревания клеток. Количество МПО-положительного материала и интенсивность окраски значительно увеличивались в созревающих клетках нейтрофильных гранулоцитов в сравнении с бластными. Средний цитохимический коэффициент реакции МПО во II группе животных на 7-е сутки составил $1,63 \pm 0,08$, что отставало от соответствующего значения в контрольной группе ($1,68 \pm 0,08$). На 30-е сутки СЦК МПО в данной группе составил $1,67 \pm 0,04$ ($P < 0,05$), что отражало снижение активности МПО в сравнении с контрольной группой, где СЦК = $1,68 \pm 0,01$.

Костный мозг животных III группы в результате трехкратного введения КСМЖ обнаружил обилие мегакариоцитов, видимых и при малом увеличении. Десятикратное введение КСМЖ показало увеличение количества клеток различных популяций без изменения их морфологии. Так же, как и в других группах, не было выявлено патологических отклонений в клеточной морфологии. Клетки без признаков атипизма, отсутствует токсигенная зернистость нейтрофилов. У животных III группы в результате трехкратного введения КСМЖ отмечали увеличение количества гликозамингликанов в клетках костного мозга. По PAS-реакции СЦК увеличился более значительно, чем в предыдущих возрастных группах — с $1,36 \pm 0,04$ в контрольной группе до $1,56 \pm 0,05$ ($P < 0,05$) в экспериментальной группе. После десятикратного введения КСМЖ на 30-е сутки

СЦК возрос с $1,37 \pm 0,05$ в контрольной группе до $1,41 \pm 0,05$ ($P < 0,05$) в экспериментальной. Реакция МПО показала, что в III группе животных в результате введения КСМЖ отмечалось уменьшение количества пероксидазы в нейтрофильных гранулоцитах. В III группе животных на 7-е сутки СЦК реакции МПО составил $1,81 \pm 0,02$ ($P < 0,05$), что отставало от соответствующего значения в контрольной группе ($1,84 \pm 0,01$). На 30-е сутки СЦК МПО в данной группе составил $1,37 \pm 0,02$ ($P < 0,05$), что отражало снижение активности МПО в сравнении с контрольной группой, где СЦК составлял $1,84 \pm 0,01$.

Морфология клеток костного мозга опытных животных IV возрастной группы не отличалась от таковой группы контроля. Видимой патологии в световом микроскопе по-прежнему не отмечали. Также не выявляли признаков атипизма клеток, необычных включений в цитоплазме и явного изменения клеточного состава в сторону доминирования одного из дифферонов. После трехкратного введения КСМЖ в IV группе животных СЦК по PAS-реакции несколько возрос — с $1,39 \pm 0,02$ в контрольной группе до $1,49 \pm 0,01$ ($P < 0,05$) в экспериментальной. В результате десятикратного введения в той же группе отмечали подъем значения СЦК с $1,39 \pm 0,02$ до $1,50 \pm 0,01$ ($P < 0,05$) в контрольной и опытной группах соответственно. В IV группе животных на 7-е сутки СЦК реакции МПО составил $1,76 \pm 0,08$ ($P < 0,05$), что отставало от соответствующего значения в контрольной группе ($1,78 \pm 0,02$). На 30-е сутки СЦК МПО в данной группе составил $1,64 \pm 0,02$ ($P < 0,05$), что отражало снижение активности МПО в сравнении с контрольной группой, где СЦК составлял $1,78 \pm 0,01$.

Видимых отличий в морфологии клеток контрольной и опытных групп ни в одной серии эксперимента не наблюдали. Окраска по Романовскому — Гимзе показала отсутствие видимых патологических изменений в клетках IV–VII классов всех дифферонов. Цитохимические реакции PAS и МПО выявили нормальное развитие клеток-предшественников. В результате PAS-реакции было обнаружено достоверное увеличение количества PAS-позитивного материала в опытных группах по сравнению с контрольными, что свидетельствует о влиянии КСМЖ на гликогенаккумулирующую функцию клеток, которая обычно сопровождает процессы полноценного вызревания клеток в костном мозге. Одновременно отмечали достоверное уменьшение количества продуктов пероксидазного окисления (МПО-реакция) во всех возрастных группах, что опосредованно связано с воздействием кортикотропного гормона в составе КСМЖ. Дальнейшие исследования будут направлены на анализ количественных изменений гемопоэтических клеток всех дифферонов по результатам миелограммы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаров А. Ю. Роль ликвора в нейрогуморальной регуляции физиологических функций / А. Ю. Макаров // Успехи физиологических наук. – 1978. – Т. 9, № 4. – С. 82–96.
2. Фридман А. П. Основы ликворологии / А. П. Фридман. – Л. : Медицина, 1971. – 647 с.
3. Ткач В. В. Определение тератогенных и эмбриотоксических свойств биопрепарата «Ликворин» / В. В. Ткач, А. В. Кубышкин, В. В. Ткач (мл.) // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения : сб. тр. Крым. мед. ун-та. – Сим-



ферополь, 1998. – Т. 134. – С. 89–95.

4. *Ткач В. В.* (мл.). Влияние ксеногенной спинномозговой жидкости на клеточный иммунитет в эксперименте / В. В. Ткач (мл.), В. В. Ткач, М. А. Кривенцов // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 61–62.

5. *Ткач В. В.* (мл.). Влияние ксеногенной спинномозговой жидкости на реакции гуморального иммунитета / В. В. Ткач (мл.), В. В. Ткач, М. А. Кривенцов // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 62.

6. *Ликвор* как гуморальная среда организма / В. С. Пикалюк, Е. Ю.

Бессалова, В. В. Ткач [и др.] – Симферополь : «Ариал», 2010. – 192 с.

7. *Пат.* 62850А, Україна. 7А61К35/24, А61К35/12. Спосіб одержання цільного лікворного препарату / Ткач В. В., Адамень Ф. В., Лисенко В. В. [та ін.] ; опубл. 15.12.2003, Бюл. № 12. – 3 с.

*Передплачуйте
і читайте*



ОДЕСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

Передплата приймається у будь-якому передплатному пункті

Передплатний індекс 48717

У випусках журналу:

- ◆ *Теорія і експеримент*
- ◆ *Клінічна практика*
- ◆ *Профілактика, реабілітація, валеологія*
- ◆ *Новітні технології*
- ◆ *Огляди, рецензії, дискусії*

